JC09 Rec'd PCT/PTO 17 OCT 2005.

DOCKET NO.: 279667US0PCT

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

IN RE APPLICATION OF: Toshihiko IMATO, et al.

SERIAL NO.: NEW U.S. PCT APPLICATION

FILED: HEREWITH

INTERNATIONAL APPLICATION NO.: PCT/JP04/04428

INTERNATIONAL FILING DATE: March 29, 2004

FOR: DIFFERENTIAL SURFACE PLASMON RESONANCE MEASURING DEVICE AND ITS

MEASURING METHOD

REQUEST FOR PRIORITY UNDER 35 U.S.C. 119 AND THE INTERNATIONAL CONVENTION

Commissioner for Patents Alexandria, Virginia 22313

Sir:

In the matter of the above-identified application for patent, notice is hereby given that the applicant claims as priority:

CO	U.	N	${f T}$	R	\mathbf{Y}

APPLICATION NO

DAY/MONTH/YEAR

Japan Japan

2003-118565 2004-029060

23 April 2003 05 February 2004

Certified copies of the corresponding Convention application(s) were submitted to the International Bureau in PCT Application No. PCT/JP04/04428. Receipt of the certified copy(s) by the International Bureau in a timely manner under PCT Rule 17.1(a) has been acknowledged as evidenced by the attached PCT/IB/304.

> Respectfully submitted. OBLON, SPIVAK, McCLELLAND. MAIER & NEUSTADT, P.C.

Customer Number 22850

(703) 413-3000 Fax No. (703) 413-2220 (OSMMN 08/03)

Norman F. Oblon Attorney of Record Registration No. 24,618

Surinder Sachar

Registration No. 34,423

日本国特許庁 JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日
Date of Application:

2003年 4月23日

出 願 番 号 Application Number: 特願2003-118565

[ST. 10/C]:

[JP2003-118565]

出 願 人

独立行政法人 科学技術振興機構

Applicant(s):

REC'D. 2 1 MAY 2004

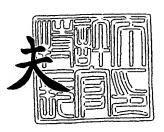
PCT

PRIORITY DOCUMENT SUBMITTED OR TRANSMITTED IN

ITTED OR TRANSMITTED IN COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

2004年 4月30日

特許庁長官 Commissioner, Japan Patent Office 今井康



【書類名】

特許願

【整理番号】

03JST36

【提出日】

平成15年 4月23日

【あて先】

特許庁長官殿

【国際特許分類】

GO1N 21/27

GO1N 33/483

G01N 33/543

GO1N 33/553

【発明者】

【住所又は居所】

福岡県福岡市東区箱崎3-5-38 ライムライト20

2

【氏名】

浅野 泰一

【発明者】

【住所又は居所】

福岡県福岡市早良区南庄2-8-8-307

【氏名】

今任 稔彦

【特許出願人】

【識別番号】

396020800

【氏名又は名称】

科学技術振興事業団

【代表者】

沖村 憲樹

【代理人】

【識別番号】

100089635

【弁理士】

【氏名又は名称】

清水 守

【手数料の表示】

【予納台帳番号】

012128

【納付金額】

21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】

明細書 1

【物件名】

図面 1

【物件名】

要約書 1

【包括委任状番号】 0013088

【プルーフの要否】 要

【書類名】明細書

【発明の名称】 リアルタイム表面プラズモン共鳴測定装置

【特許請求の範囲】

【請求項1】

- (a) 入射光の入射角が共鳴角を含んだ前後の角度になるような入射光学系と、
- (b) 一束の入射光の照射範囲にプリズムに蒸着した薄膜上のサンプル溶液固定部とリファレンス溶液固定部がともに含まれるように配置される試料セット装置と、
- (c) 前記サンプル溶液固定部とリファレンス溶液固定部からの反射光をそれぞれ分離し、それらの反射光の向きを変え1ライン上に投影する投影光学系と、
- (d) 前記反射光を1ライン上のCCDで受光するリニアCCDセンサとを具備することを特徴とするリアルタイム表面プラズモン共鳴測定装置。

【請求項2】 請求項1記載のリアルタイム表面プラズモン共鳴測定装置において、前記投影光学系は、前記サンプル溶液固定部とリファレンス溶液固定部からの反射光をそれぞれ分離し、それらの反射光の向きを変え1ライン上に投影する複数個のミラーを具備することを特徴とするリアルタイム表面プラズモン共鳴測定装置。

【請求項3】 請求項2記載のリアルタイム表面プラズモン共鳴測定装置において、前記複数個のミラーは、前記サンプル溶液固定部からの反射光を第1の角度で反射する第1のミラーと、前記リファレンス溶液固定部からの反射光を第2の角度で反射する第2のミラーとを具備することを特徴とするリアルタイム表面プラズモン共鳴測定装置。

【請求項4】 請求項2記載のリアルタイム表面プラズモン共鳴測定装置に おいて、前記複数個のミラーは、複数のサンプル溶液固定部とリファレンス溶液 固定部に対応した3個以上のミラーを具備することを特徴とするリアルタイム表 面プラズモン共鳴測定装置。

【発明の詳細な説明】

[0001]

【発明の属する技術分野】

本発明は、食品の安全性や環境モニタリング、また、危険物や麻薬の超高感度 検出を可能とするものであり、環境保全分野、医療・福祉分野、農業、化学工業 、食品産業分野など、生活に密接に関係した多くの分野への大きな波及効果が期 待される、リアルタイム表面プラズモン共鳴測定装置に関するものである。

[0002]

【従来の技術】

表面プラズモン共鳴(SPR)センサは、金などの薄膜を蒸着したプリズムに臨界角以上の角度で光を入射し、その薄膜表面の誘電率の変化により起こる表面プラズモン共鳴(SPR)現象による反射光強度の変化を物質の検出に利用している。実用上は薄膜表面に固定化された抗体に抗原が結合すると、薄膜界面に屈折率変化が生じることから、抗原抗体反応を利用した高感度バイオセンサなどとして採用されている。

[0003]

図6は従来の表面プラズモン共鳴測定装置の模式図である。

[0004]

この図において、1は入射光、2はプリズム、3はプリズム2に蒸着される金などの薄膜、4はその薄膜3上のサンプルチップ、5は反射光、6はリニアCC Dセンサである。

[0005]

このように従来は、1つのリニアCCDセンサ6に対し、薄膜3上のサンプルチップ4の1点にリファレンス溶液、サンプル溶液等を順に導入し、シグナルを時系列で測定・記録し、時系列位置で異なる位置でのリファレンスシグナルとサンプルシグナルとの間での演算によりそのシグナル変化量を算出するようにしていた。

[0006]

このような従来の技術としては、以下に開示するようなものがあった。

[0007]

【特許文献1】

特開2000-039401号(第10~12頁 図1)

【特許文献2】

特開2001-183292号(第5~7頁 図1)

【特許文献3】

特開2001-255267号 (第5~6頁 図5)

[0008]

【発明が解決しようとする課題】

しかしながら、上記した従来の表面プラズモン共鳴測定装置によって得られる シグナルは、図7に示すように、外因によるノイズを多く含んでいる。

[0009]

なお、図7の横軸には時間、縦軸にはSPRシグナル強度が示されている。

[0010]

また、上記した表面プラズモン共鳴測定装置の共鳴角は薄膜の温度変化に大変 敏感なため、従来のSPR法ではプリズムの薄膜上にサンプル溶液とリファレン ス溶液を準備し、交互に測定・補正が行われており、リアルタイム測定ができず 、また、薄膜上の光照射位置の制御が複雑である。

[0011]

特に、従来型の光学系では、プリズムの薄膜上のサンプルチップの1点のみを 測定していた。

[0012]

そのため、薄膜上の2点の測定を同時に行うにはリニアCCDセンサが2台必要となる。しかし、従来の光学系のまま、リニアCCDセンサを2個用意した場合、電子部分としてもプリアンプ2台、ADC(A/Dコンバータ)2台が必要となり、コストもサイズもアップするといった問題があった。

[0013]

本発明は、上記状況に鑑みて、リアルタイム測定できるように、一束の光照射 範囲に金属薄膜上のサンプル溶液固定部とリファレンス溶液固定部とを設置する とともに、サンプル溶液固定部とリファレンス溶液固定部からの反射光を分離し て、1ライン上のCCDで受光できるリアルタイム表面プラズモン共鳴測定装置 を提供することを目的とする。

[0014]

【課題を解決するための手段】

本発明は、上記目的を達成するために、

[1] リアルタイム表面プラズモン共鳴測定装置において、入射光の入射角が 共鳴角を含んだ前後の角度になるような入射光学系と、一束の入射光の照射範囲 にプリズムに蒸着した薄膜上のサンプル溶液固定部とリファレンス溶液固定部が ともに含まれるように配置される試料セット装置と、前記サンプル溶液固定部と リファレンス溶液固定部からの反射光をそれぞれ分離し、それらの反射光の向き を変え1ライン上に投影する投影光学系と、前記反射光を1ライン上のCCDで 受光するリニアCCDセンサとを具備することを特徴とする。

[0015]

[2] 上記 [1] 記載のリアルタイム表面プラズモン共鳴測定装置において、 前記投影光学系は、前記サンプル溶液固定部とリファレンス溶液固定部からの反 射光をそれぞれ分離し、それらの反射光の向きを変え1ライン上に投影する複数 個のミラーを具備することを特徴とする。

[0016]

[3]上記[2]記載のリアルタイム表面プラズモン共鳴測定装置において、 前記複数個のミラーは、前記サンプル溶液固定部からの反射光を第1の角度で反 射する第1のミラーと、前記リファレンス溶液固定部からの反射光を第2の角度 で反射する第2のミラーとを具備することを特徴とする。

[0017]

[4]上記[2]記載のリアルタイム表面プラズモン共鳴測定装置において、 前記複数個のミラーは、複数のサンプル溶液固定部とリファレンス溶液固定部に 対応した3個以上のミラーを具備することを特徴とする。

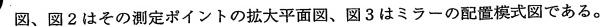
[0018]

【発明の実施の形態】

以下、本発明の実施の形態について詳細に説明する。

[0019]

図1は本発明の実施例を示すリアルタイム表面プラズモン共鳴測定装置の構成



[0020]

これらの図において、11は入射光、12はプリズム、13はプリズム12に蒸着される金などの薄膜、14は薄膜13上に配置されるサンプルチップ、15は一束の入射光11により照射されるサンプルチップ14上の範囲(測定ポイント)である。この測定ポイント15にはサンプル溶液固定部(A点)とリファレンス溶液固定部(B点)がセットされている。

[0021]

また、16は測定ポイント15からの反射光、17はシリンドリカルレンズ、18は平凸レンズ、19は反射ミラー、20はスリット、21はサンプル溶液固定部 (A点)とリファレンス溶液固定部 (B点)からの反射光をそれぞれ第1のミラー21Aと第2のミラー21BでA光とB光とに分離し、1ライン上に投影するミラー、22は第1の反射光 (A光)、23は第2の反射光 (B光)、24は1ライン上に投影される第1の反射光 (A光) 22と第2の反射光 (B光) 23とを1ライン上に投影するリニアCCDセンサである。因みに、測定ポイント15のA点とB点の間隔は6mmである。そこで、一束の入射光11の照射範囲15内に、プリズム12に蒸着された薄膜13上のサンプルチップ14上にセットされたサンプル溶液固定部 (A点)とリファレンス溶液固定部 (B点)がともに含まれるように調整する。この時、入射光11の入射角が共鳴角を含んだ前後の角度になるような入射光学系を用いる。

[0022]

サンプル溶液固定部(A点)とリファレンス溶液固定部(B点)からの反射光 16を、シリンドリカルレンズ17、平凸レンズ18で1束の反射光として集光 し、その1束の反射光16を反射ミラー19で反射し、その反射ミラー19で反射された1束の反射光16をスリット20で一条の反射光として整えてミラー21に入射させる。そのミラー21は、入射された一条の反射光16をサンプル溶液固定部(A点)とリファレンス溶液固定部(B点)からの反射光のそれぞれを A光22、B光23として分離し、1ライン上に投影するようにしている。

[0023]

そして、ミラー21から投影される1ライン上の、サンプル溶液固定部(A点)部とリファレンス溶液溶液固定部(B点)からの反射光、つまり、A光22、 B光23は、リニアCCDセンサ24によってリアルタイムに撮像される。

[0024]

上記したミラー21を詳細に説明すると、図3に示すように、スリット20を介して得られた反射光16が入射するミラー21は、水平線に対して入射光16が角度 ϕ_1 をなすように配置した第1のミラー21 Aと、水平線に対して入射光16が角度 ϕ_2 をなすように配置した第2のミラー21 Bを有している。A光22は第1のミラー21 Aで反射角 θ_1 で反射させたものであり、B光23は第2のミラー21 Bで反射角 θ_2 で反射させることにより、A光22とB光23が互いに平行となるように反射させることで、1ライン上に並び、リニアCCDセンサ24によってリアルタイムに撮像される。

[0025]

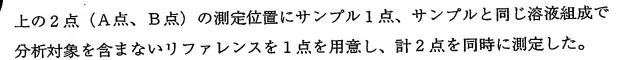
この時、例えば、第1のミラー21Aと第2のミラー21Bとは少なくともY 軸方向及びZ軸方向に互いにずれた位置に配置される。つまり、Y軸方向におい ては、第1のミラー21Aは第2のミラー21Bより奥の方向に配置され、Z軸 方向においては、第1のミラー21Aは第2のミラー21Bより上部の位置に配 置される。

[0026]

このように本発明のDUAL-SPR法では、SPRシグナルを含むプリズム 12上のサンプルチップ14上の2点(A点、B点)からの反射光16をリニア CCDセンサ24へ入射する際、その手前に置かれた2個のミラー(ミラー21 A、21B)によりリニアCCDセンサ24の1ライン上の2位置にそれぞれ分けて投影することにより、プリズム12上のサンプルチップ14の2点(A点、B点)をこれまでと同じ1つのリニアCCDセンサ24で同時に測定可能とした(図1~図3)。これにより、リアルタイムでの温度補償、サンプルの実際の極 微小変位量を安定に測定することができる。

[0027]

具体例として、本発明のDUAL-SPR法により、同一サンプルチップ14



[0028]

その結果、図4に示すように、SPRシグナルの反応前ゼロ点(b:リファレンスSPRシグナル)とサンプル測定によるSPRシグナル(a;サンプルSPRシグナル)を同時に観測し、その差分を常に求めることにより、図5に示すように、分析対象との反応後のSPRシグナルを温度補償なしに安定したシグナルとして求めることができ、抗原抗体反応によるSPRシグナル微小変化量をリアルタイムに観測することができる。

[0029]

なお、図4および図5の横軸には時間、縦軸にはSPRシグナル強度が示されている。

[0030]

これによりリアルタイムでのDUAL-SPR計測が可能となり、また、一度 投影光学系をセットすると、光照射位置に対して複雑な制御が不必要になること から装置の簡素化が図られる。

[0031]

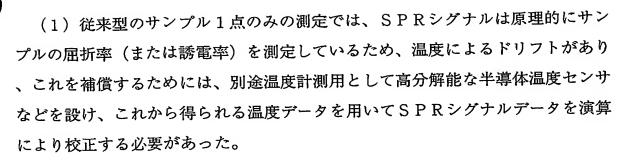
なお、上記した実施例では、サンプル溶液固定部(A点)とリファレンス溶液固定部(B点)をそれぞれ1個所ずつセットした例について述べたが、サンプル溶液固定部を2個所、リファレンス溶液固定部を1個所にする等、測定個所をさらに複数個所とし、投影光学系のミラー(21に想到)を3個、4個、…n個(3分割、4分割、…n分割)していくことにより、薄膜上の2個所以上での溶液の計測を可能にすることができる。すなわち、複数サンプルの同時計測や、サンプル同士の比較などにも利用できる。

[0032]

このように、複数点を同時に測定することによって、本発明によるリアルタイム表面プラズモン共鳴測定装置の以下のような使用方法が考えられる。

[0033]

(A) 温度補償としての使用



[0034]

SPRシグナルは、バイオセンサとして抗原抗体反応に使用される場合、その変化量は極めて少ない。そこで、本発明のDUAL-SPRで同一サンプルチップ上の2点の測定位置にサンプル溶液1点、温度補償用として温度係数の大きなサンプルを1点用意することにより、この温度センサの代替目的での使用が可能となる。

[0035]

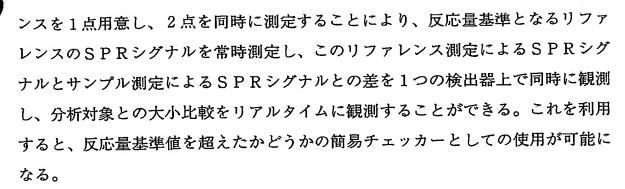
(2) また、上記(1) に加えて、SPRシグナルの温度補償を行う場合、その温度特性とマッチングした温度センサが必要となるが、本発明のDUAL-SPRで同一サンプルチップ上の2点の測定位置にサンプル溶液1点、温度補償用としてサンプルと同一溶液組成でかつ分析対象を含まないリファレンス溶液を1点用意することにより、同一溶液組成での屈折率温度変化をリアルタイムで補償することができる。

[0036]

- (B) リアルタイム観測方法として使用
- (1) 本発明のDUAL-SPRで同一サンプルチップ上の2点の測定位置にサンプル1点、サンプルと同じ溶液組成で分析対象を含まないリファレンスを1点用意し、2点を同時に測定することにより、SPRシグナルの反応前ゼロ点を常時測定し、このゼロ点とサンプル測定によるSPRシグナルを同時に観測し、その差を求めることによって、分析対象との反応後のSPRシグナルをリアルタイムに観測することができる。

[0037]

(2) 本発明のDUAL-SPRで同一サンプルチップ上の2点の測定位置に サンプル1点、サンプルと同じ溶液組成で既知の濃度の分析対象を含むリファレ



[0038]

(C) 多試料のリアルタイム観測方法

本発明のリアルタイム表面プラズモン共鳴測定装置の光学系では、プリズム上の多点を多数個のミラーにより1つのリニアCCDセンサ上に分けて測定することができる。すなわち、製作上の限界はあるものの、ミラーを同様に、3分割、4分割、…n分割していくことにより、3点、4点、…n点の測定ポイントを同一のリニアCCDセンサ上に投影することができる。

[0039]

使用方法として考えられるものとして、マルチポイント測定が可能なことから、サンプル1点、ゼロ1点、スパン1点の計3点同時測定、サンプル2点、ゼロ1点、スパン1点の計4点同時測定も可能になる。

[0040]

近年、内分泌攪乱物質(環境ホルモン)や埋設地雷などにより、私たちを取り 巻く環境問題が深刻になってきており、21世紀社会の重大な課題として挙げら れている。本発明は、食品中や河川、土壌中に含まれる環境ホルモンなどの有害 物質を現場フィールドにおいて超高感度にかつ高選択に検出するハンディタイプ のセンサとして好適である。

[0041]

なお、本発明は上記実施例に限定されるものではなく、本発明の趣旨に基づいて種々の変形が可能であり、これらを本発明の範囲から排除するものではない。

[0042]

【発明の効果】

以上、詳細に説明したように、本発明によれば、一束の光の照射範囲に薄膜上

のサンプル溶液とリファレンス溶液がともに含まれるようにし、入射光の入射角が共鳴角を含んだ前後の角度になるような光学系を用い、さらにサンプル溶液固定部とリファレンス溶液固定部からの反射光をミラーを用いて分離し、リニアCCDセンサに導き、1ライン上のCCDで計測できるよう工夫されている。これによりリアルタイムでの計測が可能となり、また、光照射位置に対して複雑な制御が不必要になることから装置の簡素化が図られる。

[0043]

また、本発明によれば、サンプル溶液部を2個所、リファレンス溶液部を1個所とするなど、薄膜上の3個所以上で溶液の計測が可能となり、複数サンプルの同時計測や、サンプル同士の比較などにも利用できる。

【図面の簡単な説明】

【図1】

本発明の実施例を示すリアルタイム表面プラズモン共鳴測定装置の構成図である。

【図2】

本発明の実施例を示すリアルタイム表面プラズモン共鳴測定装置の測定ポイントの拡大平面図である。

【図3】

本発明の実施例を示すリアルタイム表面プラズモン共鳴測定装置のミラーの配置模式図である。

【図4】

本発明の実施例を示すリアルタイム表面プラズモン共鳴測定装置による処理前サンプル・リファレンスの各SPRシグナルを示す図である。

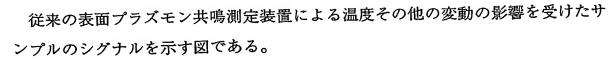
【図5】

本発明の実施例を示すリアルタイム表面プラズモン共鳴測定装置による処理後 サンプルのSPRシグナルを示す図である。

【図6】

従来の表面プラズモン共鳴測定装置の模式図である。

【図7】



【符号の説明】

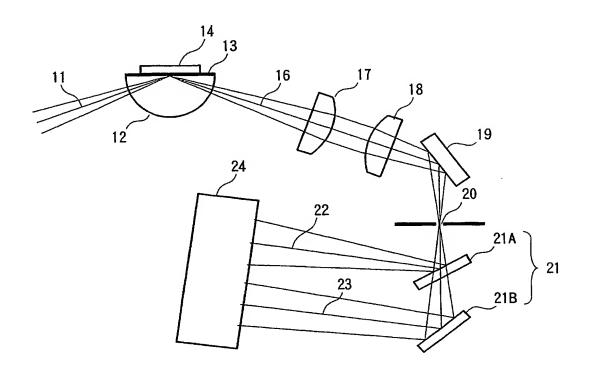
- 11 入射光
- 12 プリズム
- 13 薄膜
- 14 サンプルチップ
- 15 測定ポイント (A点, B点)
- 16 測定ポイントからの反射光
- 17 シリンドリカルレンズ
- 18 平凸レンズ
- 19 反射ミラー
- 20 スリット
- 21 反射光を1ライン上に投影するミラー
- 21A 第1のミラー
- 21B 第2のミラー
- 22 第1の反射光(A光)
- 23 第2の反射光 (B光)
- 24 リニアCCDセンサ



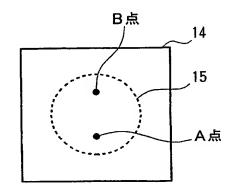
【書類名】

図面

【図1】

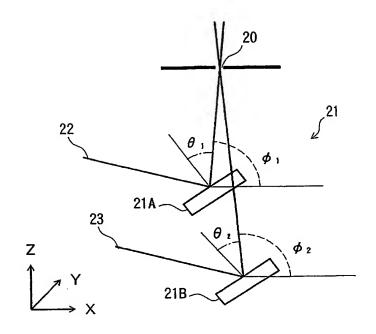


【図2】

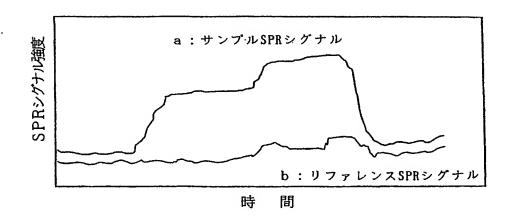




【図3】

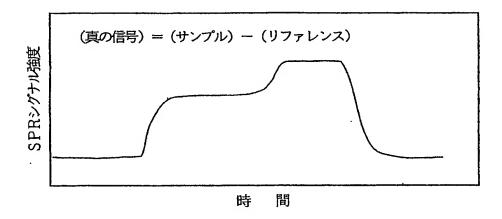


【図4】

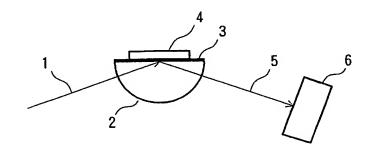




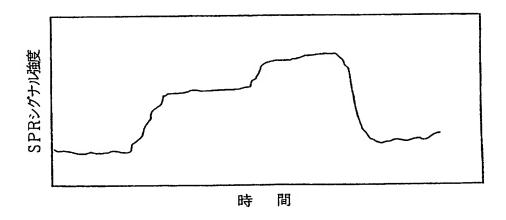
【図5】



【図6】



【図7】





【書類名】

要約書

【要約】

【課題】 リアルタイム測定できるように、一束の光照射範囲に金属薄膜上のサンプル溶液固定部とリファレンス溶液固定部とを設置するとともに、サンプル溶液固定部とリファレンス溶液固定部からの反射光を分離して、1ライン上のCCDで受光できるリアルタイム表面プラズモン共鳴測定装置を提供する。

【解決手段】 入射光11の入射角が共鳴角を含んだ前後の角度になるような入射光学系と、一束の入射光11の照射範囲15にプリズム12に蒸着した薄膜13上のサンプル溶液とリファレンス溶液がともに含まれるように配置される試料セット装置と、前記サンプル溶液部とリファレンス溶液部からの反射光16をそれぞれ分離し、それらの反射光22,23の向きを変えて1ライン上に投影する投影光学系21と、前記反射光22,23を1ライン上のCCDで受光するリニアCCDセンサ24とを具備する。

【選択図】 図1



【書類名】 【提出日】 【あて先】

【事件の表示】

【出願番号】

【承継人】

【識別番号】

【住所又は居所】 【氏名又は名称】

【代表者】 【連絡先】

【提出物件の目録】 【物件名】

【援用の表示】

【物件名】 【援用の表示】 出願人名義変更届(一般承継)

平成15年10月31日 特許庁長官 殿

特願2003-118565

503360115

埼玉県川口市本町四丁目1番8号

独立行政法人科学技術振興機構

沖村 憲樹

東京都千代田区四番町5-3 独立行政法 $\mp 102 - 8666$ 人科学技術振興機構 知的財産戦略室 佐々木吉正 TEL 3-5214-8486 FAX 03-5214-8417

権利の承継を証明する書面 1

平成15年10月31日付提出の特第許3469156号にかか る一般承継による移転登録申請書に添付のものを援用する。

登記簿謄本 1

平成15年10月31日付提出の特第許3469156号にかか る一般承継による移転登録申請書に添付のものを援用する。



特願2003-118565

出願人履歴情報

識別番号

[396020800]

1. 変更年月日 [変更理由] 住 所 氏 名 1998年 2月24日 名称変更 埼玉県川口市本町4丁目1番8号 科学技術振興事業団



特願2003-118565

出願人履歴情報

識別番号

[503360115]

1. 変更年月日 [変更理由]

2003年10月 1日 新規登録

上変更埋田」 住 所

埼玉県川口市本町4丁目1番8号

氏 名

独立行政法人 科学技術振興機構